

Title	Sadp1 regulates head morphogenesis of mouse embryos by activating the Lim-Ldb1 complex
Author(s)	西岡, 則幸
Citation	
Issue Date	
oaire:version	
URL	https://hdl.handle.net/11094/46248
rights	
Note	著者からインターネット公開の許諾が得られていないため、論文の要旨のみを公開しています。全文のご利用をご希望の場合は、 https://www.library.osaka-u.ac.jp/thesis/#closed 大阪大学の博士論文について ご参照 ください。

Osaka University Knowledge Archive : OUKA

<https://ir.library.osaka-u.ac.jp/>

Osaka University

氏 名 西 岡 則 幸

博士の専攻分野の名称 博 士 (医 学)

学 位 記 番 号 第 19769 号

学 位 授 与 年 月 日 平成 17 年 8 月 31 日

学 位 授 与 の 要 件 学位規則第 4 条第 1 項該当

医学系研究科生体制御医学専攻

学 位 論 文 名 Ssdpl regulates head morphogenesis of mouse embryos by activating the Lim1-Ldb1 complex
(Ssdpl は Lim1-Ldb1 コンプレックスの活性化によりマウス頭部形成を制御している)

論 文 審 査 委 員 (主査)

教 授 近藤 寿人

(副査)

教 授 浜田 博司 教 授 八木 健

論 文 内 容 の 要 旨

〔研究目的〕

近年、頭部誘導活性をもつオーガナイザー領域で発現する転写因子やシグナル分子が次々と明らかにされ、頭部誘導のメカニズムは明らかになり始めている。しかしながら、誘導された頭部領域がその後どのような分子機構で実際の頭部へと発生していくのかは不明な点が多い。そこで本研究では、トランスジーン挿入によって偶然樹立された、前頭部を大きく欠失する表現型を示す変異マウス系統 (*headshrinker* : *hsk*) を解析し、頭部形成のメカニズムに迫ることを目的とした。

〔方法ならびに成績〕

まず、頭部欠失の原因遺伝子の同定を行なった。トランスジーン挿入部位に隣接したゲノム断片を得、ゲノムデータベースから頭部欠失変異の原因遺伝子を検索した。トランスジーンは Ldb1 結合蛋白質をコードする *Single-stranded DNA binding protein 1 (Ssdpl)* 遺伝子のイントロンに挿入されており、*hsk* ではその発現レベルが野生型の約 30%に低下していた。この *Ssdpl* cDNA によって *hsk* の頭部欠失の表現型が回復したことから、*hsk* は *Ssdpl* の発現が低下している変異マウスであることが明らかとなった。

次に、頭部オーガナイザー形成に必須な転写因子 Lim1 は、Ldb1 と複合体を形成して機能することから、*Ssdpl* 変異マウスである *hsk* では Lim1 の機能が異常になっていることが考えられた。そこで *hsk* の胚発生を解析したところ、*hsk* では頭部オーガナイザーの AVE や ADE の形成は正常であったが、後期の頭部オーガナイザーである脊索前板において Lim1 の下流遺伝子の発現が消失していた。E8.5 には中脳後脳境界より前方部分を欠失した。さらに、培養細胞を用いた機能解析から、*Ssdpl* は転写活性化ドメインを持つ蛋白質であること、Ldb1 とともに Lim1 による標的遺伝子の転写活性化を増強することが明らかとなった。

〔総括〕

hsk 変異体マウスにみられる頭部欠失の原因の究明を行ない、*Ssdpl* が頭部形成にどのように作用しているのかを

明らかにした。その結果、(1)*hsk* では後期頭部オーガナイザーである脊索前板が形成されないこと、(2)脊索前板は中脳後脳境界より前方の頭部形成に必要不可欠であること、(3)*Ssdp1* は転写活性化因子であり、*Ldb1* と共に脊索前板形成に必須な転写因子 *Lim1* の転写活性化能を増強する働きのあること、(4)*in vivo* で *Ssdp1* は *Ldb1* や *Lim1* と頭部形成において遺伝学的に相互作用することを見出した。これらの結果から *Ssdp1* は *Ssdp1*-*Ldb1*-*Lim1* 複合体を活性化することで脊索前板形成に作用しており、*hsk* では *Ssdp1* の発現減少により脊索前板が形成されないために頭部が欠失することが明らかとなった。

論文審査の結果の要旨

マウスをはじめとする哺乳類の頭部の原基を成立させるために働く、*AVE* (前方臓側内胚葉)、*ADE* (前方胚性内胚葉)、脊索前板の3つのシグナル中心が知られている。これらのシグナル中心は時期を異にしてこの順序で作用し、「頭部オーガナイザー」と総称され、転写制御因子 *Lim1* の活性に依存するという共通性がある。*Lim1* ノックアウトマウスでは、頭部を欠失する。

申請者は、*hsk* と呼ぶトランスジェニックマウス系統では、*Lim1* ノックアウトマウスと類似の頭部欠失を生じることに注目して、その原因を解析した。*hsk* ではトランスジェンの *Ssdp1* 遺伝子イントロン内への挿入による効果によって、*Ssdp1* の転写が低下し、その結果、(*AVE*、*ADE* は形成されるものの) 脊索前板が形成されないために、ひとたび成立しかけた頭部の原基がその性質を失うことを示した。更に、*Ssdp1* 蛋白質は *Ldb1*、*Lim1* と転写活性化複合体をつくること、この複合体の形成が脊索前板を形成するための *Lim1* の機能に必須であることを示した。

本研究は、頭部形成にかかわるシグナル中心間の機能分担、また *Lim1* を中心とした転写制御機構について、重要な知見をもたらしたものであり、博士(医学)の学位に値するものと認める。